

Róka András

■ ELTE TTK Kémiai Intézet

A „protonpumpák” következménylánc

A mitokondrium funkcionális elektro-biokémiája (Harmadik rész)

Kajtár Márton emlékére

Az első részben vázoltuk, hogy a mitokondrium, a folyamatosan beérkező anyagok térben elválasztott redoxireakciója alapján, bioüzemanyag-cellaként működik. Az oxidációs térfélen a reakciópartnerek enzimek által biztosított szinkron elektronpár-átrendeződése a csoportárviteli reakciók elektronpár-átvitelével együtt elektronpár-transzportláncot alkot.

A második részben bemutattuk, hogy az oxigénmolekulák elektronszerkezetéhez alkalmazkodva a redukció az elektrontranszport-lánc egyelektronos bioredoxi-félvezetésével történik. A centrumok töltéskiegyenlítődése a redoxilépést követő sav-bázis reakcióval valósul meg. Az oxidációs lépésben a vasionok Lewis-sav-erősségének fokozódása növeli a közeli, savas tulajdonságú molekularészletek protonáló erejét, és az enzimek membránban történő elhelyezkedése miatt a centrumok „protonpumpává” válnak. A membránok közötti tér elsavasodása pedig halmozott következményeket okoz.

A membránfelszíni protonvezetés logikai következménye

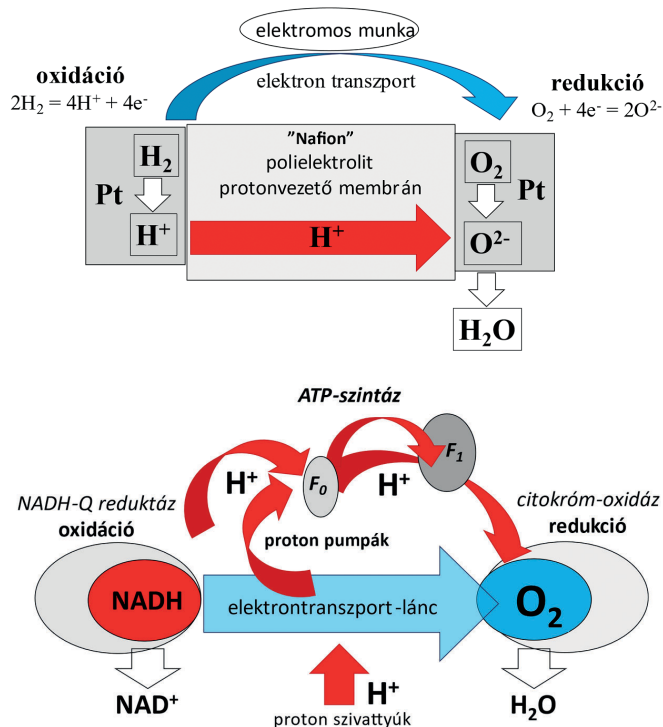
Ha a protonok a membrán felszínén, a hidrogénkötés-rendszerben vándorolnak, akkor a membrán közötti tér elsavasodása csak a protonvezetés feltételét teremti meg. A Mitchell által megadott „protonmotoros” erő (Δp) képletében – leszámítva a membránpotenciál járulékát (E_m) – egy koncentrációs elem elektromotoros ereje jelenik meg [1]:

$$\Delta p = E_m - \frac{2,3 RT}{zF} \Delta pH = E_m - \frac{2,3 RT}{zF} (\log c(H_1) - \log c(H_2))$$

Ez az elektrokémiai potenciálkülönbségként kezelt tag a mitokondriumban nem töltheti be sem az elektromotoros erő, sem a protonmotoros erő szerepét. Egyrészt azért, mert funkcióját tekintve elektronáram és nem protonáram a hajtóereje. Másrészt azért, mert a hidrogénelektrodok híján a „protongradiens” önmagában csak diffúziós hajtóerő lehet. A protonok azonban nem diffúzióval vándorolnak.

Mitchell még nem ismerhette Oláh György metóniumionra vonatkozó eredményeit. Ezért nem vehette figyelembe, hogy a hidrogénion nem klasszikus kémiai részecske. Elemi részecskéként nincs elektronburka, ezért esetében sem a Coulomb-, sem a Pauli-féle taszítás nem érvényesül. „Gátlástalansága” következtében kémiai közegben önmagában sohasem fordul elő, hiszen még a

metánmolekulához is kapcsolódhat. Ezért nem diffúzióval, hanem hidrogénkötéseken keresztül vagy protonált ionok formájában vándorol. Még fontosabb azonban, hogy a gradiens iránya éppen merőleges a feltételezett membránfelszíni protontranszport irányára. Ezért legfeljebb az ATP-szintáz F_0 transzmembrán protonvezető csatornájában töltheti be a vándorlás hajtóerejét. A protonoknak azonban az ATP-szintázig el kell jutni, továbbá a két fél közötti koncentrációkülönbséget is folyamatosan fenn kell tartani. Ezért a protontranszportnak a redoxreakciót kísérő, töltéskiegyenlítő sav-bázis reakció éppúgy a hajtóereje, mint a vízmolekulák képződése a hidrogénalapú üzemanyagcellában (1. ábra).



1. ábra. Az elektrontranszport-lánc és a technikai üzemanyagcella hasonlósága. A záró, irreverzibilis protonálódási reakciók ugyanúgy „protonmotoros” erővé válnak, mint a vízmolekulák képződése a hidrogénalapú üzemanyagcellában

Az önként lejátszódó folyamat azért különleges, mert – az üzemanyagcellával ellentétben – funkció is épül rá: a vízmolekulák képződése mellett célirányosan juttatja el a protonokat az ATP-szintázhoz (1. ábra).



Az ATP savkatalitikus szintézise

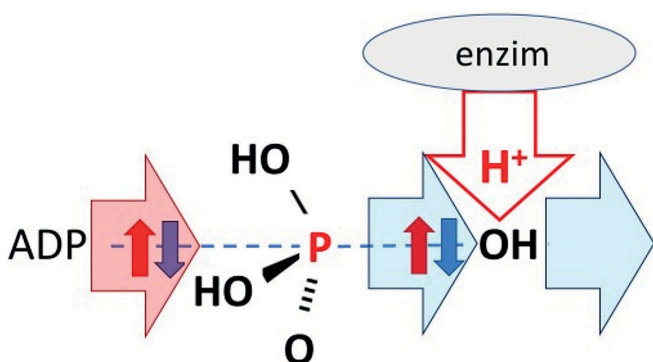
Boyer és Walker Nobel-díjas eredményei elsősorban az ATP-szintáz szerkezetére és működésére vonatkoznak [1], és a szintézis molekuláris mechanizmusa még mindig továbbfejleszthető. Az eddigi ismeretek birtokában véleményem szerint feltételezhető, hogy a reakció lényegét tekintve nem különbözhet nagyon a szubsztrátszintű foszforiláció „ionos” mechanizmusától [2]. A foszfoenol-piroszólósav és a szukcinil-CoA esetében a molekulákban kialakuló karbokation elektronpár elvonása növeli a foszforcentrum elektrofilitását, és ezáltal aktiválja a foszforil egységet a csoportátvitelhez. Számomra ez azt sugallja, hogy az oxidatív foszforiláció nemcsak a reakciók csatolása révén valósul meg, hanem molekuláris szinten is: A Lewis-savként megjelenő karbokation hatását nevezhetnénk a foszforiláció „molekulán belüli oxidációval” történő előkészítésének.

Az ATP-szintáz esetében persze kizárt a redoxiaktiválás lehetősége. Az elektronpár elvonása azonban sav-bázis reakcióval, pontosabban savkatalízissel is megtörténhet, kihasználva ezzel a terminális oxidáció és az ATP-szintézis Mitchell által olyan fontosnak tartott protontranszporttal történő csatolását.

Az enzim általi savkatalízis lényege, hogy a közeg elvasodása nélkül, lokálisan történik meg a protonálás. Elemi lépésekre bontva a foszforsav egyik O–H csoportjának protonálódása és a kirajzoló víz molekula leválása után szintén egy elektronpár-hiányos foszforcentrum vagy „foszforkation” alakul ki. Ez az „aktivált” foszforilcsoport már kiváló elektronpár-akceptor az amúgy is disszociált állapotú ADP nukleofil támadásával szemben. Az enzimkomplexeen belül tehát elektronpár-átrendeződéssel játszódnak le az elemi lépések. A reakciópartnerek optimális kötődése ráadásul lehetővé teszi még az elektronpárok szinkron átrendeződését, vagyis a nukleofil addíció és a víz molekula leválásának egyidejű lejátszódását is. Ez a megoldás az egy lépéses nukleofil szubsztitúció S_N2 mechanizmusához hasonlít, eltekintve attól, hogy az enzim nélkülözhetetlen közreműködése miatt nem bimolekulás a reakció.

Ez a kölcsönös előnyökkel járó kooperatív kölcsönhatás egy szerre tartalmazza a Lewis-sav-bázis-párok kölcsönhatására visszavezethető „mágikussav-effektust” és annak inverzét: a támadó ADP elektronpáronor erősíti a foszforcentrum elektronellátottságát, és ezáltal a foszforsav Bronsted-bázikusságát. Az elekt-

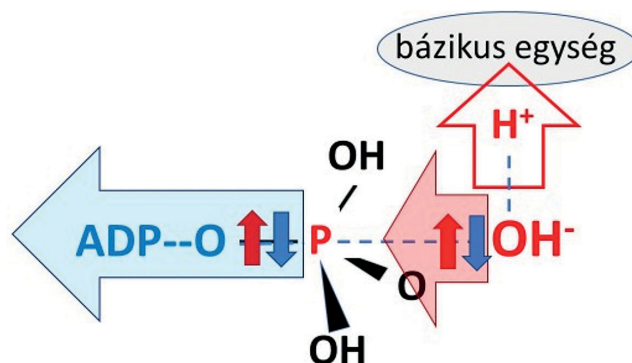
2. ábra. Az ATP savkatalitikus szintézise kölcsönös előnyökkel járó kooperatív reakció a Lewis-párok között. A támadó ADP elektronpárja erősíti a foszforsav Bronsted-bázikusságát, a víz molekula leválása pedig fokozza a foszforcentrum elektrofilitását, Lewis-savasságát. Az inverzió segíti az ADP bekötését és a víz molekula egyidejű leválását



ronpár-elvonás pedig, ami már az O–H csoport protonálódásával kezdődik, és a víz molekula leválásával végződik, fokozza a foszforcentrum elektrofilitását, Lewis-savasságát. A megnövekedett bázikusság megkönnyíti a protonálódást, míg a víz molekula jobb távozó csoport, mint a hidroxidion, aminek a protonátlan foszforsavról kellene távoznia (2. ábra). Ezért nem szükséges olyan erős sav, mint amilyen egyébként a foszforsav protonálásához kellene. Vagyis nincs szükség extra energiájú protonra („energized proton”) vagy nagy hidrogénion-koncentrációra [1].

Az energiát, az elektromos munkát az elektronpár elvonása, vagyis az foszforsav P–OH kötésének „ionos bontása” igényli. A feltételek kialakulásával az elektronpáronor (ADP) és -akceptor („foszforil-kation”) között már egyenesen az elektrosztatikus vonzás irányítja a kapcsolódást. A javasolt mechanizmus összhangban áll Boyer és munkatársai megállapításával, miszerint „nem ahhoz kell nagy energia, hogy az ADP-ből és szervesen foszfátból ATP keletkezzék” [3]. Feltételezhető, hogy a szubsztrátok bekötődésekor további kooperatív kölcsönhatás is segítheti a Lewis-pár reakcióképességének növekedését.

Az ATP-szintáz a mátrixban helyezkedik el. A neutrális közegben ezért lokálisan kell a protonáló erőt biztosítani. Ez az F_1 enzim motor elforduló β egységének lehet a feladata. A reakciópartnerek bekötődését biztosító pozíciónak még nincs katalitikus aktivitása [1, 3]. A kooperatív reakció csak az elfordulást követően, feltételezhetően a savkatalízissel, a foszforsav protonálódásával következhet be, mert valószínű, hogy csak ekkor nyílik meg a célirányos protoncsatorna. A makromolekulás „elektromotor” forgatóerejét protonált funkció csoportok elektrosztatikus taszítása hozhatja létre, ami transzport következtében például aminosav-szegmensek között alakulhat ki. A reakciósebesség szempontjából logikus megoldás lenne, ha az elfordulást előidéző konformációváltozás, a savkatalízis és az újabb elforgatás folytatódóan játszódhatna le. Az elfordulást követően megszűnik a tasztítóerő, és bekövetkezhet a protonálás, majd egy következő proton érkezésével ismétlődhet a folyamat.



3. ábra. Az ATP báziskatalizált hidrolízise. A lokálisan keletkező hidroxidion erősebb nukleofil, ezért távozásra kényszeríti az ADP-t. Az inverzió most is elősegíti a kötések egyidejű kialakulását és bomlását

A kooperatív mechanizmus egyúttal magyarázatot ad a reakció megfordíthatóságára is. A folyamat az ellentétes irányban is lokális sav-bázis katalízissel játszódhat le, és az ATP „hidrolízise” ismét az S_N2 mechanizmusra hasonlít. Az F_1 egység másik egysége azonban most bázikus hatást fejt ki. Elemi lépésekre bontva, az elforduló egység bázikus szegmensé át von egy protont az ATP hidrolíziséhez szükséges vízmolekuláról, ami ezáltal szükséges esetén „protonforrássá” is válhat (3. ábra).

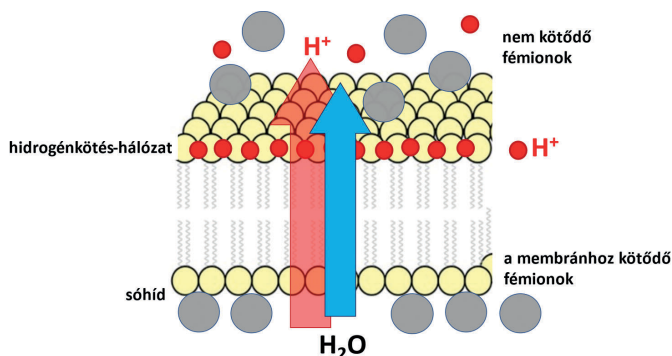


Az elektrofil foszforcentrum (Lewis-sav) elektronpár vonzásával fokozza a vízmolekula protonáló erejét, a proton leválása ugyanakkor megnöveli a támadó csoport nukleofilitását. A lokálisan keletkező hidroxidion pedig erősebb nukleofil, ezért egy elektronpárjával együtt kényszeríti távozásra az ADP-t. A bomlás a közeg ellúgosodása nélkül, szintén szinkron elektronpár-átrendeződéssel játszódhat le. A nyomjelzéses vizsgálat igazolja, hogy a ^{18}O -izotópot tartalmazó vízzel végzett ATP-hidrolízis során a foszforsavon jelenik meg az oxigénizotóp [1].

A kooperatív kölcsönhatás növeli a Lewis-párok reakcióképességét, míg az inverzió, az elektronpárok elektrosztatikus és Pauli-taszításával elősegíti a távozó csoport letaszítását. A szintézisre és a bomlásra egyaránt érvényes, hogy az egyik kötés kialakulása és a másik kötés bomlása szinkron játszódik le. A kapcsolt reakciók elve újra molekuláris szinten valósul meg, és a törvény a szabadentalpia-változás makroszkopikus fogalma helyett a kötési energiákon keresztül érvényesül.

Az ozmotikus következmény

A hidrogénionok aktív transzportjával a membránok közötti közeg összetétele is megváltozik. Mert a külső oldalon az ionok „kicserélődése”, a belső oldalon pedig a „sóhid” általi kötöttség miatt a kalciumionok koncentrációja is különbözik egymástól. Ez a sókoncentráció-különbség újabb transzportfolyamat, az ozmózis hajtóerejévé válik, ami eltávolítja a mátrixban folyamatosan képződő vizet (4. ábra). Ennek hiányában a sejtszervecske kirepedne. Ezáltal a protonok aktív transzportjára újabb funkció, passzív transzport épül. Tehát a biológiai redoxifélfűző-mechanizmus a protontranszport és a savkatalitikus ATP-szintézis fenntartása mellett az ozmózis feltételét is megteremti.



4. ábra. A protonok aktív transzportjára passzív transzport épül. A membrán közötti tér elsavasodása az ionok kicserélődéséhez vezet. A kialakuló sókoncentráció-különbség az ozmózis hajtóerejévé válik, ami eltávolítja a mátrixban folyamatosan képződő vizet

A folyamatok bámulatos önszerveződése azt is megmagyarázza, hogy az alapvetően fizikai transzportfolyamat azért válik „chemiosmosis”-sá, mert az energiatermelő kémiai reakció tartja fenn az ozmózis hajtóerejét.

Az energiaátalakítás egységes alapokra épül

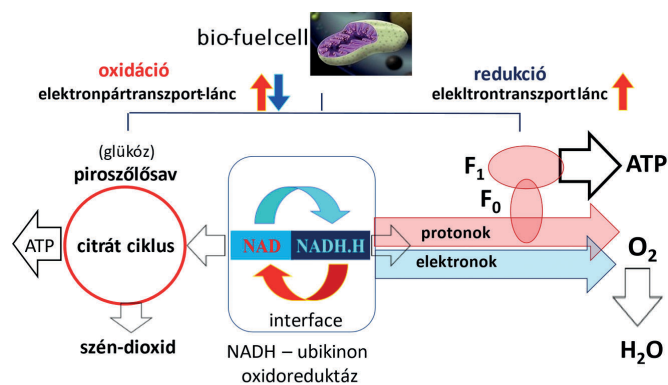
A biológiai redoxifélfűző-mechanizmus, továbbá az arra épülő ATP-szintézis és ozmózis univerzális megoldás. Mitchell elképzelését számos növényélettani kísérlet igazolja. Mivel a kloroplasz-

tiszokban az enzimek és a koenzimek nagyon hasonlóak (citokrómok, plasztokinon, ATP-szintáz), ezért joggal feltételezhető, hogy fotoszintetizáló rendszer elektrontranszport-lánca által kiváltott protonpumpa-mechanizmus és annak következmény-lánca megegyezik a mitokondriuméval. A különbség csak annyi, hogy az enzimkomplexek elhelyezkedése a tilakoid membránban, és ezáltal a pumpálás, illetve a kialakuló koncentrációgradiensek iránya a mitokondriuméval ellentétes irányú. A protonpumpa befelé, az ozmózis ellenkező irányba működik, hiszen a fotoelektrolízissal elbontandó vizet be kell juttatni a sztómába.

Összefoglalás

A szőlőcukor-származékok és az oxigén enzimkomplexek által katalizált, térben elválasztott redoxreakciója a mitokondrium membránszerkezete által biológiai üzemanyagcellát alkot. A mitokondrium bioelektromosságának különlegessége, hogy az energiaátalakítás során a fémesen kívül számos vezetési mechanizmus jelenik meg: az elektron- és az elektronpár-transzportlánc felfűző jellegű, a belső membrán felszíne pedig protonvezető.

Az oxidációs térfélen a nukleofil redoxreakciók elektronpár-átrendeződése a felfűző polimer mechanizmusára emlékeztet. Az enzimek által elősegített szinkron átrendeződések során a karbokationok („lyukak”) az elektronpárokkal ellentétes irányú vándorlása dekarboxileződéshez, illetve a szubsztrátszintű ATP-szintézis során a foszfocsoport aktiváláshoz vezet. Az elektronpár-átrendeződések a csoportátviteli reakciók elektronpár-átvitelével együtt elektronpár-transzportláncot alkotnak (5. ábra).



5. ábra. A reakcióblokkok a biológiai üzemanyagcella (bio-fuelcell) oxidációs és redukciós térfelét alkotják. Az oxidációs térfélen elektronpár-transzportlánc, a redukciós térfélen elektrontranszportlánc biztosítja az elektronvezetést. Az elektrontranszportláncban a vezetési redoxreakciók kísérő sav-bázis reakcióit a belső membrán felszíni protonvezetése hangolja össze, és az ATP-szintáz F_0 protoncsatornája osztja el az ATP-szintézis és a vízmolekulák képződése között

A citokróm komplexeknek és a vas-kén fehérjéknek az oxigénmolekulák párosítatlan elektronjaihoz illeszkedő, egyelektronos vezetése a hexacianoferrát-típusú redoxifélfűzők mechanizmusához hasonlít. Az elektrontranszport-lánc a redoxifélfűzés különleges, biológiai megvalósulása, ami a töltés kiegyenlítés során protontranszportot (pumpát) indít (5. ábra).

Az oxidációs oldal a kevés ATP szubsztrátszintű szintézise mellett NADH -t termel az oxigén redukciójához, ami az I. és III. enzimkomplexekkel megoldja az egyelektronos és az elekt-



ronpárokkal történő reakciómechanizmusok illesztését (5. ábra).

A redukciós térfel funkciója sokoldalúbb. A „főreakció”, vagyis az oxigénmolekulák NAHH.H által történő, közvetett és térben elválasztott redukciója több következménnyel jár: Nemcsak az elektronoknak kell eljutni az oxigénmolekulákhoz, hanem a protonoknak is az oxigénmolekulából keletkező peroxid-, illetve hidroxidionokhoz. Ezáltal a „távolsági” redoxireakcióhoz töltés-kiegyenlítő „távolsági” sav-bázis reakció tartozik. Az elektronok és a protonok külön utakon, de azonos irányba vándorolnak, és transzportjuk sebessége éppúgy összehangolt, mint a hidrogén-üzemű tüzelőanyag-cella működése során.

Az elektrontranszport-lánban azonban a technikai cellával szemben nem fémes vezető, hanem a membrán enzimkomplexeiből álló „bioredoxi-félfetője” juttatja el az elektronokat az oxigénmolekulákhoz. Ennek az a következménye, hogy minden egyes redoxicentrumhoz szükségszerűen kísérő, töltés-kiegyenlítő sav-bázis reakció tartozik (I., III., IV. enzimkomplexe). Ezért az elektron továbbítását jelentő „vezetési redoxireakció” mellett ezek játsszák a protonpumpa, illetve protonszivattyú szerepét. Az oxidációs lépésben a protonpumpák Bronsted-savasságát a Lewis-savak erősségének növekedése fokozza. A citokrómokban az elektronátvitel (oxidáció) során a hisztidinligandum fokozott savassága felel meg a protonpumpának, míg az elektronfogadás (redukció) során a visszamaradó anion elektrosztatikus vonzása (bázikussága) működteti a protonszivattyút.

A protonpumpa-mechanizmusnak köszönhetően a redoxireakció-lánc mentén több proton keletkezik, mint amennyit a vízmolekulák képződéséhez a NADH.H sztöchiometrikusan biztosít. Ezért a kialakuló protontranszportra élettani funkciók épülhetnek, az ATP-szintézis és az ozmózis.

A fő reakciót és a vezetési redoxireakciók kísérő sav-bázis reakcióit a belső membrán felszíni protonvezetése hangolja össze, és az ATP-szintáz F_0 protoncsatornája osztja el az ATP-szintézis és a vízmolekulák képződése között (5. ábra).

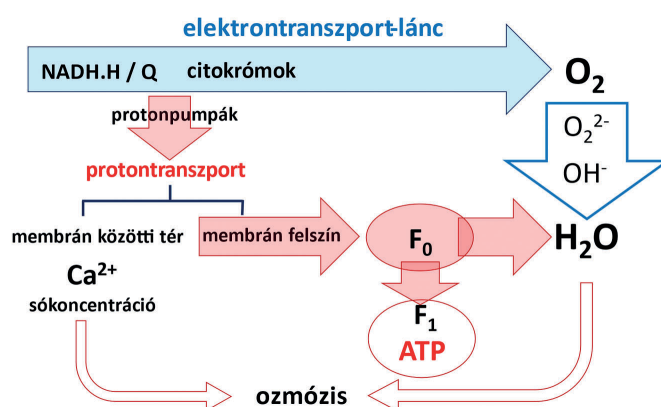
A protonpumpák aktív transzportja kettős következménnyel jár: Nemcsak a membránok közötti tér, hanem a belső membrán ezzel érintkező felszíne is „elsavasodik”. A sóhidakat hidrogénkötés-hálózat váltja fel, és a felszín a protonokat hasznosító ATP-szintézis, illetve a vízmolekula-képződés hatására protonvezetővé válik. Ezáltal a protonok célirányosan jutnak el az F_0 protoncsatorna segítségével az ATP-szintáz F_1 -egységéhez és a citokróm-oxidázhoz. A foszfácionok és az oxigénmolekulából képződő ionok protonálódásával zárul a protontranszport és vele együtt az áramkör is.

Az elsavasodás membrán közötti térre vonatkozó következménye, hogy a hidrogénionok kiszorítják a kalciumionokat a foszfocsoportokkal alkotott „sóhidakból”. Ezáltal a belső membrán két oldalán különbözővé válik a sókoncentráció is, ami a képződő víz folyamatos eltávolítását biztosító ozmózis hajtóerejévé válik. A hidrogénionok aktív transzportjára a vízmolekulák passzív transzportja épül, aminek a feltételét az elektrontranszport-lánc redoxireakciói teremtik meg.

A bioüzemanyag-cellában a kémiai energia elektromos munkaként hasznosul. A bioelektromosság különlegessége, hogy elektronvezetés (az „electrocity”) mellett a protonvezetés (a „proticity”) is egyenértékű szerephez jut. Mert az önként lejátszódó töltés-kiegyenlítő folyamatra a vízmolekulák keletkezése mellett ATP-szintézis is épül. Az F_1 enzimkomplex elforduló egységei, az eltérő aminosav-összetételüknek köszönhetően lokális sav-bázis reakcióval katalizálják az ATP szintézisét, illetve „hidrolízisét”. Ez-

által a közeg nem savasodik, illetve lúgosodik el. A reakció mindkét irányban Lewis sav-bázis-párok kooperatív kölcsönhatásával, az S_N2 mechanizmushoz hasonlóan, inverzióval együtt járó szinkron elektronpár-átrendeződéssel játszódik le. Amíg a szubsztárszintű ATP-szintézis során oxidáció, az ATP-szintázban – az enzimatikus savkatalízissal – a foszforsav protonálódása segíti elő a foszforilcsoport aktiválását, a központi foszforatom elektrofilizálását és ezáltal reakcióképességének növelését. Az ATP hidrolízisét az enzim bázikus egységének protonátvétele indítja el, és a vízmolekulából képződő hidroxidion taszítja le az elektrofil foszforilegységről az ADP-t.

A folyamatok önszerveződésének módja Faraday elektromágneses indukciójára, illetve Onsager keresztteffektusára emlékeztet: Az egyik kölcsönhatás másik kölcsönhatást indukál. Az egyik transzportfolyamat – következményén keresztül – másik transzportot indít és tart fenn. Az egymásra épülő folyamatok egyúttal ok-okozati láncot alkotnak. A logikai lánc feltárása pedig segíti a fizikai kémiai folyamatok biológiai funkciójá történő szerveződésének megértését (6. ábra).



6. ábra. A protontranszport következménylánc. Az egymásra épülő folyamatok ok-okozati láncot alkotnak. A logikai lánc feltárása segíti a fizikai kémiai folyamatok biológiai funkciójá történő szerveződésének megértését

A membrán felszínén kialakuló protonvezető hidrogénkötés-hálózat, a nukleofil redoxireakciókban vagy a Lewis-féle sav-bázis reakciókban a párt alkotó elektronok „elválaszthatatlansága”, az enzimek közreműködésével a több molekulára kiterjedő szinkron elektronpár-átrendeződés, valamint a NAD-NADH.H reakciói során megjelenő kételektronos-háromcentrumos kötés bizonyítja, hogy a biológiai mechanizmus különlegessége két elemi részecske „egzotikus” tulajdonságaira vezethető vissza. Szent-Györgyi Albertnek igaza volt: Az élet jellege az elektronok szintje nélkül nem érthető meg. A mitokondrium és a zöld színtestek elektrobiokémiai működése annyira komplex folyamat, hogy a nélkülözhetetlen biológiai szerveződés mellett egyszerre jelenik meg az elektron összes kvantummechanikai tulajdonsága és a proton „gátlálatlansága”.

IRODALOM

- [1] L. Stryer: Biochemistry, 4th edition, W. H. Freeman and Company, 1995.
- [2] Kajtár Márton: A szénhidrátok szerepe az élő szervezetben, Bruckner Győző: Szerves kémia 1–2, átdolgozott, ötödik kiadás, Tankönyvkiadó, Budapest, 1974, 1166–1247.
- [3] Gárdos György, Sarkadi Balázs: Az ATP – az élet tüzelőanyaga. Természet Világa (1998) 129/2, 50–53.